

ГНУ "ВСЕРОССИЙСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ  
ИНСТИТУТ СЕЛЕКЦИИ И СЕМЕНОВОДСТВА ОВОЩНЫХ КУЛЬТУР"  
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ НАУК

# Современные тенденции в селекции и семеноводстве овощных культур

## Традиции и перспективы



II Международная научно-практическая конференция  
(2-4 августа 2010 года)

ТОМ I



Москва  
2010

**ГНУ «ВСЕРОССИЙСКИЙ НАУЧНО-  
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ  
СЕЛЕКЦИИ И СЕМЕНОВОДСТВА  
ОВОЩНЫХ КУЛЬТУР»  
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ  
СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ НАУК**

*90-летию  
Всероссийского НИИ  
селекции и семеноводства  
овощных культур  
посвящается*

**СОВРЕМЕННЫЕ ТЕНДЕНЦИИ  
В СЕЛЕКЦИИ И СЕМЕНОВОДСТВЕ  
ОВОЩНЫХ КУЛЬТУР.  
ТРАДИЦИИ И ПЕРСПЕКТИВЫ**



**II Международная научно-практическая  
конференция  
(2-4 августа 2010 года)**

**Материалы докладов, сообщений**



Москва  
Издательство ВНИИССОК  
2010



**ALL-RUSSIAN RESEARCH INSTITUTE  
OF VEGETABLE BREEDING AND SEED PRODUCTION  
OF RUSSIAN ACADEMY OF AGRICULTURAL  
SCIENCES**

*It is devoted to the 90th anniversary  
of All-Russian Research Institute  
of Vegetable Breeding and Seed Production*

**CURRENT TRENDS  
IN VEGETABLE BREEDING  
AND SEED PRODUCTION.  
TRADITIONS AND PERSPECTIVES**



**II th International Scientific Research  
Conference  
(August 02 – 04th 2010)**

**COLLECTION OF SCIENTIFIC PAPERS**

**Volume 1**

*Edited by  
Victor F. Pivovarov, academician of RAAS, professor*

Moscow  
2010

## ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ СОРТОВ AMARANTHUS SPP. НА ОСНОВЕ RAPD- И ISSR-МАРКЕРОВ

Власова А.Б., Юхимук А.Н., Спиридович Е.В.

ГНУ «Центральный ботанический сад НАН Беларуси»

Минск 220012, ул. Сурганова 2В

E-mail: nastasia\_vlasova@nm.ru

### Резюме

Проведен RAPD и ISSR-ПЦР анализ 10 сортов селекции ВНИ-ИССОК, ХНАУ и ЦБС НАН Беларуси *Amaranthus* spp., поддерживаемых в коллекции ЦБС НАН Беларуси, на основе разработанных 91 RAPD- и 69 ISSR-маркеров с целью генетической сертификации идентификации, сохранения ценных генотипов рода и проведения дальнейшей направленной селекции на научной основе. С использованием специализированного прибора 2100 Bioanalyzer и других пакетов программного обеспечения построены RAPD, ISSR, RAPD+ISSR дендрограммы генетического сходства/отдаленности видов и сортов *Amaranthus* коллекции ЦБС НАН Беларуси. Для ряда генотипов выявлены уникальные маркеры (сортоспецифические) – потенциальные SCAR маркеры генов биосинтеза ценных вторичных метаболитов культуры.

### Введение

Амарант, или щирица (*Amaranthus*) – широко распространённый род преимущественно однолетних травянистых растений, относится к семейству Амарантовых, широко используются в ряде стран как овощная (*A. gangeticus*, *A. mangostanus* и др. виды), зерновая (*A. caudatus*, *A. paniculatus*) и декоративная (*A. caudatus*, *A. hypochondriacus* и др.) культуры. Амарант богат большим количеством ценных для здоровья человека и животных веществ, может быть интересен как источник получения биологически активных веществ – амарантина, рутина,

каротиноидов [1, 2]. В связи с этим актуальными становятся исследования по поиску и идентификации генов контролирующих биосинтез ценных вторичных метаболитов (фингерпринтинг метаболитов) – ценных в фармакологическом отношении.

Ведущим центром по селекции культуры амаранта в России является ВНИИССОК, где создан ряд сортов амаранта с ценными пищевыми и лекарственными свойствами [1, 2]. В ЦБС НАН Беларуси также создано несколько сортов с декоративными и кормовыми характеристиками. Ведется научно-поисковая работа по изучению физико-химических свойств ряда сортов амаранта в связи с переработкой на муку [3].

Актуальность культуры *Amaranthus* и наличие сортов и видов в коллекции ЦБС НАН Беларуси, а также проведение работ по получению субстанций из растительного сырья амаранта ставит задачу строгой сертификации коллекционного материала на основе современных молекулярно-биологических и генетических методов с целью сохранения, дальнейшей селекции, обмена генетическим материалом с другими ботаническими садами и держателями коллекций [4, 5].

Коллекция сортов и видов *Amaranthus* ЦБС НАН Беларуси представляет собой 10-летний опыт работы, по акклиматизации, интродукции и селекции и включает 10 ценных сортов, относящихся к различным видам (табл.1), селектированных научными центрами России, Украины, а также 4 сорта собственной селекции (ЦБС НАН Б). Показано, что Беларусь является весьма благоприятным регионом для интродукции и акклиматизации этого вида; зарегистрированы и допущены к возделыванию в Беларуси ряд силосных и декоративных сортов амаранта [6, *Государственный реестр сортов и древесно-кустарниковых пород Республики Беларусь*].

В средней полосе в основном культивируются четыре вида амаранта: *A. paniculatus*, *A. hypochondriacus*, *A. caudatus* и *A. tricolor*. На сегодняшний день предприняты попытки использования молекулярных маркеров для изучения взаимоотношений различных видов амаранта, генетического разнообразия видов амаранта и их филогенетического анализа, эволюционного происхождения культуры: изоферментный анализ, RAPD, AFLP, SSR, SCAR, ITS регион, ISSR-генотипирование [7-12]. Однако не существует данных по изучению и дифференциации генотипов сортов культуры амаранта, и соответственно для представленных в коллекции генотипов сортов амаранта предстояло впервые разработать протоколы проведения RAPD- и ISSR-анализов, решить задачу различить сорта на внутривидовом уровне. Для исследований внутривидового полиморфизма, определения генетического сходства/отдаленности генотипов сортов с целью их дифференцирования нами был выбран комплексный подход использования двух методик, осно-

ванных на RAPD– и ISSR-ПЦР. Одновременное использование двух маркерных систем, RAPD и ISSR, позволяет значительно расширить зоны покрытия генома, и получить генетические маркеры в двух независимых срезах. Сегодня метод одновременного использования RAPD и ISSR маркеров успешно применяется для маркирования геномов растений, считается результативным и достоверным [5, 12, 13, 14].

Цель данного исследования состояла в разработке комплексного молекулярного подхода на основе RAPD– и ISSR-ПЦР анализа для выявления генетического разнообразия сортов коллекции ЦБС НАН Беларуси на межвидовом и внутривидовом (более низком таксономическом) уровнях. В задачи входило селективировать информативные RAPD и ISSR праймеры, и разработать актуальные RAPD– и ISSR-маркеры для 10 сортов амаранта.

**Материалы и методы.** Коллекция *Amaranthus* spp. ЦБС НАН Беларуси представлена 10 сортами (табл. 1). Сбор растительного материала амаранта для молекулярно-биологических анализов проводили в середине июля 2009 г. Для выделения геномной ДНК навеску свежих листьев (100 мг) использовали немедленно, либо замораживали и хранили в кельвинаторе «REVCO ULT-390» при  $-80^{\circ}\text{C}$ . ДНК изолировали из 100 мг свежих листьев методом СТАВ [15]. Оценку количественного содержания и чистоты полученных образцов геномной ДНК определяли спектрофотометрически на приборе Agilent 8453.

В ходе исследований были оптимизированы условия проведения RAPD– и ISSR-ПЦР. RAPD-ПЦР проводили в 25  $\mu\text{l}$  смеси, содержащей 1 $\times$  ПЦР буфер (PrimeTech, Беларусь), 100  $\mu\text{M}$  каждого dNTP (PrimeTech, Беларусь), 20 пМ праймера (PrimeTech, Беларусь), 0,5 ед. Taq ДНК полимеразы (PrimeTech, Беларусь) и 10 нг матрицы ДНК. ISSR амплификацию выполняли в 25  $\mu\text{l}$  смеси, содержащей 1 $\times$  ПЦР буфер (PrimeTech, Беларусь) с  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , 2,0 мМ  $\text{MgCl}_2$ , 0,1 мМ dNTPs (PrimeTech, Беларусь), 30 пМ праймера и 1 ед. Taq ДНК полимеразы (PrimeTech, Беларусь). В каждой реакции использовали по 20 нг ДНК матрицы. Реакцию проводили в термоциклире Mastercycle Personal (Eppendorf). Для RAPD-ПЦР устанавливали следующие режимы:  $96^{\circ}\text{C}$  – 2 минуты; 40 циклов:  $94^{\circ}\text{C}$  – 1 мин,  $T_m$  праймера 45 с,  $72^{\circ}\text{C}$  – 2 мин;  $72^{\circ}\text{C}$  – 7 мин (финальная элонгация);  $4^{\circ}\text{C}$  хранение. ISSR-ПЦР проводили следующим образом:  $94^{\circ}\text{C}$  – 5 мин; 40 циклов:  $94^{\circ}\text{C}$  – 1 мин,  $T_m$  праймера 45 с,  $72^{\circ}\text{C}$  – 1 мин; финальная элонгация  $72^{\circ}\text{C}$  – 5 мин; хранение –  $4^{\circ}\text{C}$ .

Для обнаружения генотипической вариабельности между сортами *Amaranthus* spp. коллекции ЦБС методами RAPD и ISSR на основании данных литературы были выбраны и использованы 6 произвольных десятичленных праймеров: OPA-16, OPA-18, OPA-20, OPE-14, OPD-

07, ОРА-16, ОРВ-03, а также 4 микросателитных праймеров UBC-846, UBC-866, UBC-857, ISSCR-4 (табл. 2).

1. Реестр сортов *Amarantus* spp. коллекции ЦБС НАН Беларуси, взятых на RAPD и ISSR анализ

№ пп.	Сорт	Таксономия	Селекционер
1	Кизлярец	<i>A. hypochondriacus</i>	ВНИИССОК, Россия
2	Крепыш	<i>A. hypochondriacus</i>	ВНИИССОК, Россия
3	Зеленая сосулька	<i>A. caudatus</i>	ВНИИССОК, Россия
4	Сэм	<i>A. hypochondriacus</i>	ХНАУ им. В.В. Докучаева, Украина
5	Ультра*	<i>A. hybridus</i> , или <i>paniculatus</i>	ХНАУ им. В.В. Докучаева, Украина
6	Валентина	<i>A. tricolor</i>	ВНИИССОК, Россия
7	Жемчужинка	<i>A. caudatus</i>	ЦБС НАНБ, Беларусь
8	Рубин	<i>A. paniculatus</i>	ЦБС НАНБ, Беларусь
9	Чародей	<i>A. hybridus</i> L. var. <i>erythrostachys</i>	ЦБС НАНБ, Беларусь
10	Прелюдия	<i>A. caudatus</i>	ЦБС НАНБ, Беларусь

Прим. \*Сорт Ультра был получен из двух источников (далее: Ультра (1), Ультра (2)).

2. Список произвольных и микросателитных праймеров, использованных для генотипирования анализа коллекции сортов амаранта (*Amaranthus* spp.)

№	Праймер	Последовательность, 5'–3'	Tm1/Tm2*	MW, Da	%GC	Ссылка
<i>RAPD</i>						
1	ОРА-20	GTTGCGATCC	32/34,2	3017	60	[12, 16]
2	ОРА-16	AGCCAGCGAA	32/40	3044	60	[12]
3	ОРА-18	AGGTGACCGT	32/31,6	3065	60	[12]
4	ОРЕ-14	TGCGGCTGAG	34/42,4	3080	70	[17]
5	ОРД-07	TTGGCACGGG	34/46,5	3080	70	[17]
6	ОРВ-03	CATCCCCCTG	34/38,6	2924	70	[12]
<i>ISSR</i>						
9	UBC-846	(CA) <sub>8</sub> RT**	52/53,7	5376	44	[12]
10	UBC-866	(CTC) <sub>6</sub>	55/60,5	5235	67	
11	ISSCR-4	(CT) <sub>8</sub> TG**	52/47,7	5319	50	
12	UBC-857	(AC) <sub>8</sub> YG**	54/60,1	5376	56	

Примечание – \*Tm 1 и 2 рассчитаны по различным алгоритмам. \*\*R – соответствует A и G остаткам; Y – соответствует C и T остаткам

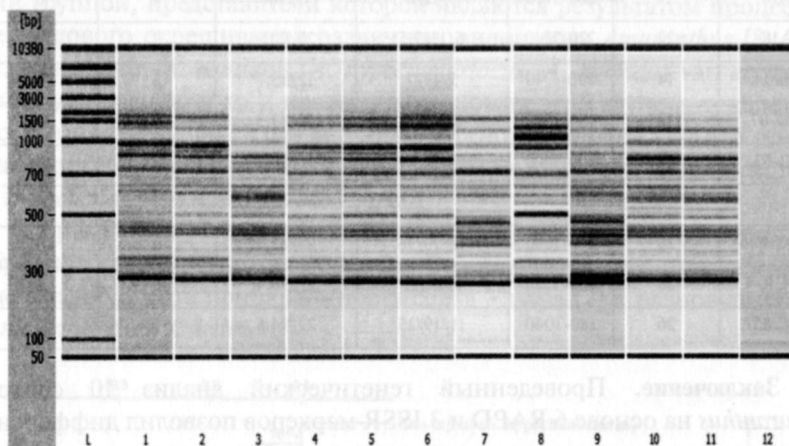
Электрофоретическое разделение и визуализацию ампликонов проводили с использованием прибора 2100 Bioanalyzer (Agilent). Обработку полученных данных проводили по стандартным протоколам с использованием пакетов специализированного программного обеспечения 2100 Expert (Agilent), Phoretix 1D (<sup>TM</sup>Nonlinear Dynamics), Treecon.

**Результаты и обсуждение.** Использованные праймеры OPA-20, OPA-16, OPA-18 и OPB-03 (табл. 2) позволили получить четкие воспроизводимые амликоны, набор которых для каждого исследуемого сорта характеризовался уникальностью, т. е. обнаруживали полиморфизм между сортами, и таким образом позволили дифференцировать все генотипы. Праймеры OPE-14 и OPD-07 также генерировали четкие воспроизводимые амликоны и позволили различить практически все генотипы. Однако праймер OPE-14 не выявил отличий между генотипами сортов Прелюдия (*A. caudatus*), Чародей (*A. hybridus*) и Зеленая сосулька (*A. caudatus*). OPD-07 не позволил различить сорта Прелюдия (*A. caudatus*), Чародей (*A. hybridus*) и Зеленая сосулька (*A. caudatus*), а также генерировал идентичные спектры для сортов Рубин (*A. paniculatus*) и Ультра (1) (*A. paniculatus*). Исходя из данных о видовой принадлежности следует сделать вывод, что праймеры OPE-14 и OPD-07 не могут быть использованы для дифференциации генотипов на внутривидовом уровне для видов *A. caudatus*, *A. hybridus* и *A. paniculatus*. Однако могут быть использованы для генетической паспортизации сортов видов *A. hypochondriacus* и *A. tricolor*. Данные о спектрах ампликонов, полученных с помощью RAPD праймеров приведены в таблице 3.

Для проведения ISSR-анализа сортов *Amaranthus* spp. были использованы 4 микросателлитных праймера, выбранных на основании существующих литературных данных (см. Таблицу 2). Все исследованные праймеры, кроме UBC-866 были использованы для дальнейшего генотипирования сортов *Amaranthus* spp. Праймер UBC866, хотя и выявлял воспроизводимые полосы, все же не позволил дифференцировать исследованные генотипы, т.к. не выявлял закономерного внутри- и межвидового полиморфизма. Праймеры UBC-846, ISSCR-4 и UBC-857 позволили получить четкие воспроизводимые амликоны, набор которых для каждого исследуемого сорта характеризовался уникальностью, т.е. обнаруживали полиморфизм между всеми исследованными генотипами, и таким образом позволили дифференцировать все сорта. Разделение продуктов амплификации с произвольным праймером UBC-846 приведено на рисунке 1. Микросателлитные праймеры UBC-852, ISSCR-4 позволили разработать уникальные для ряда генотипов маркеры – 1 и 6 маркеров, соответственно (табл. 3). Данные о спектрах ампликонов, полученных с помощью ISSR праймеров приведены в таблице 3.



На основании полученных RAPD и ISSR маркеров были созданы генетические паспорта для всех исследованных генотипов сортов *Amaranthus* spp., рассчитаны генетические дистанции между ними и построены UPGMA и NJ дендрограммы отдаленности/сходства: как для каждой маркерной системы (данные не приведены), так и для объединенных RAPD+ISSR данных. На рисунке 2 представлена консенсусная UPGMA дендрограмма на основании использования 6-ти RAPD- и 3-х ISSR праймеров.



**Рис.1.** Разделение ампликонов геномной ДНК *Amaranthus* spp. с микросателлитным праймером UBC 846 на приборе 2100 Bioanalyzer (Agilent). Сорта: 1 – Кизлярец, 2 – Крепыш, 3 – Зеленая сосулька, 4 – Сэм, 5 – Ультра (1), 6 – Валентина, 7 – Жемчужина, 8 – Рубин, 9 – Чародей, 10 – Прелюдия, 11 – Ультра(2); 12 – отрицательный контроль; L – стандарт длины фрагментов

Помимо того, что были разработаны уникальные генетические паспорта для каждого генотипа, данные ISSR-анализа дают возможность оценивать встречаемость простых повторов в исследуемых генотипах. Нами были использованы AC и CT повторы, которые показали высокую встречаемость в геноме *Amaranthus* spp., что согласуется с литературными данными, по которым AG/CT повторы являются высоковстречаемыми в геномах растений [18], по сравнению с AC/GT повторами. Однако в наших исследованиях CT повторы продемонстрировали приблизительно сходную довольно высокую встречаемость в геноме *Amaranthus* spp. Более того, данные повторы показали высокую способность дифференцировать исследованные генотипы. Требуется дальнейшее исследование с использованием других простых повторов.

### 3. Характеристика спектров ампликонов сортов *Amaranthus* spp., полученных с помощью RAPD и ISSR праймеров

Праймер	Количество маркеров	Длина фрагментов, bp	Количество фрагментов на образец, min/мах/среднее	Количество полиморфных маркеров/% полиморфизма	Количество уникальных маркеров	Количество идентичных генотипов
<i>RAPD</i>						
OPA20	23	240-2600	4/15/9,5	22/95,7	5	0
OPA16	17	260-1760	4/12/8	17/100	4	0
OPA18	22	220-2740	6/13/9,5	20/90,9	2	0
OPE-14	14	390-1740	5/19/7	12/85,7	2	3
OPD-07	12	480-1590	3/6/4,5	10/83,3	5	2/3
OPB-03	18	200-1400	4/12/8	16/88,9	3	0
<i>ISSR</i>						
UBC-846	28	270-1600	12/20/16	23/82,1	0	0
ISSCR-4	28	250-1520	8/14/11	27/96,4	6	0
UBC 857	26	180-1040	11/19/15	22/84,6	1	0

**Заключение.** Проведенный генетический анализ 10 сортов *Amaranthus* на основе 6 RAPD и 3 ISSR маркеров позволил дифференцировать все исследованные генотипы, разработать и составить уникальные профили для каждого из них (генетические паспорта), рассчитать генетические дистанции родства/отдаленности, обнаружить уникальные для ряда сортов маркеры.

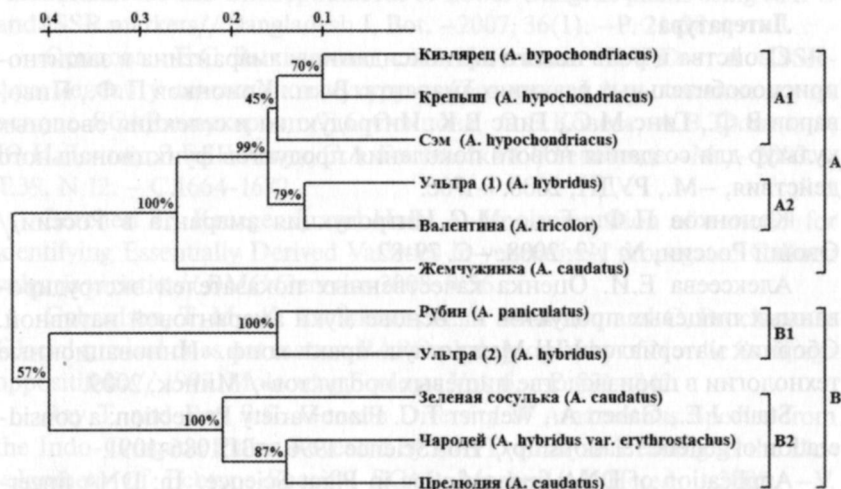
Данные по RAPD и ISSR генотипированию сортов привели к сходным результатам по выявленной степени родства изучаемых сортов: кластеризация в консенсусных RAPD и ISSR дендрограммах сохраняется, однако есть небольшие отличия в субкластеризации некоторых сортов (данные не приведены). На основании 91 RAPD и 69 ISSR маркеров была сгенерирована консенсусная RAPD+ISSR дендрограмма, представленная на рисунке 2. Комплексный RAPD+ISSR анализ данных позволил осуществить более тонкий анализ различий генотипов исследуемых образцов, уточнить генетические взаимосвязи исследуемых сортов *Amaranthus* spp.

Так, сорта Кизлярец, Крепыш и Сэм, относящиеся к виду *A. hypochondriacus* формируют отчетливый кластер (обозначенный на рисунке 1 как  $A_1$ ). Тем не менее, сорт Сэм отстоит от сортов Кизлярец и Крепыш, которые образуют единый субкластер. Полученные данные хорошо согласуются с тем, что эти сорта созданы в разных селекционных центрах (сорта Кизлярец и Крепыш – ВНИИССОК (Россия), сорт Сэм – ХНАУ им. В.В. Докучаева).

Сорт Валентина (ВНИИССОК, Россия), относящийся к виду *A. tricolor* располагается так же как и сорт Ультра (1) (*A. hybridus*) в кластере, обозначенном на рисунке 2 как  $A_2$ , формирующим с кластером  $A_1$  (*A. hypochondriacus*) метакластер А. Таким образом использованная система RAPD+ISSR маркирования позволила различить сорта видов *A. hypochondriacus* и *A. tricolor*, и получить свидетельства в пользу их родства.

Вид *A. hybridus* является сложной в таксономическом отношении группой, представители которой являются результатом процесса межвидового скрещивания различных видов рода *Amaranthus* [8, 10] (*A. paniculatus*, *A. caudatus*, *A. hypochondriacus*, *A. hybridus* var. *erythro-stachus*, *A. cruentus* и др.), поэтому таксономия этой группы нуждается в серьезной ревизии. В связи с этим можно предположить, что генотип сорта Ультра (1), является результатом межвидовой гибридизации *A. hypochondriacus* и возможно *A. tricolor*.

Сорта Рубин (*A. paniculatus*, ЦБС НАН Б) и Ультра (2) (*A. hybridus*) образуют кластер  $B_1$  в метакластере В (рисунок 2), что дает основание предположить принадлежность сорта Ультра (2) к разновидности *paniculatus* вида *A. hybridus*.



**Рис.2.** Консенсусная RAPD+ISSR дендрограмма, отражающая степень генетического сходства/различия между сортами *Amaranthus* spp., полученная на основании 160 маркеров, сгенерированных праймерами ОРА20, ОРА16, ОРА18, ОРЕ-14, ОПД-07 и ОПВ-03, УВС-846, ИСССР-4 и УВС 857.

Значения Вootstrap указаны над соответствующей ветвью (%)

Кластер  $B_2$  формируют сорта Зеленая сосулька и Прелюдия, относящиеся к виду *A. caudatus*, а также сорт Чародей, который по предоставленной селекционером информации относится к виду *A. hybridus* var. *erythrostachus*. Расположение сорта Чародей в окружении представителей вида *A. caudatus* и высокие значения bootstrap в данном кластере позволяют предположить, что форма *erythrostachus* вида *A. hybridus* может состоять в родстве с видом *A. caudatus*.

Расположение сорта селекции ЦБС Жемчужинка (*A. caudatus*) отдельной ветвью в метакластере А (объединяющем генотипы *A. hypochondriacus* и *A. tricolor*), а не в  $B_2$ , требует проведения дополнительного генотипирования эталонной линии сорта и родительских форм, чтобы исключить вероятность того, что исследованный образец сорта Жемчужинка не является результатом переопыления.

Разработанные сорт-специфические маркеры совместно с детальной характеристикой ряда биохимических параметров предоставляют перспективу маркирования ценных признаков различных сортов *Amaranthus*, в т.ч. генов биосинтеза вторичных метаболитов (пектинов, флавоноидов, антоцианов, сквалена) и полимеров (крахмала).

### Литература

Свойства и роль нового антиоксиданта – амарантина в защитно-приспособительных реакциях амаранта. В кн.: Кононков П.Ф., Пивоваров В.Ф., Гинс М.С., Гинс В.К. Интродукция и селекция овощных культур для создания нового поколения продуктов функционального действия, –М., РУДН, 2008. –170с.

Кононков П.Ф., Гинс М.С. Интродукция амаранта в России// Овощи России, № 1-2, 2008. –С. 79-82.

Алексеева Е.И. Оценка качественных показателей экструдированных пищевых продуктов на основе муки амарантовой нативной. Сборник материалов VIII Межд. науч.-практ. конф. «Инновационные технологии в производстве пищевых продуктов»/ Минск, 2009.

Staub J.E., Gabert A., Wehner T.C. Plant Variety Protection: a consideration of genetic relationship// HortScience 1996.— 31:1086-1091.

Application of DNA fingerprinting in Plant Science/ In: DNA fingerprinting in plants: principles, methods, and applications// By Weising K., Nybom H., Wolff K., Kahl G. 2005. CRC Press. Published by Taylor&Francis Group// P. 235-276.

Шаршунов В.А., Рукшан Л.В., Ветошкина А.А. Перспективы использования нетрадиционных кормовых добавок при производстве комбикормов для животноводства и птицеводства// Весці Нацыянальнай Акадэміі навук Беларусі, № 4. –2006. –С. 82-91.

Chan K.F., and M. Sun. Genetic diversity and relationships detected by isozyme and RAPD analysis of crop and wild species of *Amaranthus*// Theor. Appl. Genet. —1997. —V. 95. —P. 865–873.

Xu F., and Sun M. Comparative analysis of phylogenetic relationships of grain amaranths and their wild relatives (*Amaranthus*; *Amaranthaceae*) using internal transcribed spacer, amplified fragment length polymorphism, and double-primer fluorescent intersimple sequence repeat markers// Mol. Phylogenet. Evol. —2001. —V. 21. —P. 372–387.

Wassom J.J., Tranel P.J. 2005. Amplified fragment length polymorphism-based genetic relationships among weedy *Amaranthus* species. *J Hered.* 96:410–416.

Mallory M.A., Hall R.V., McNabb A.R., Pratt D.B., Jellen E.N., and Maughan P.J. Development and Characterization of Microsatellite Markers for the Grain Amaranths// *Crop Science.* —V. 48. 2008. —P. 1098–1106.

Lee J.R., Hong G.Y., Dixit A., Chung J.W., Ma K.H., Lee J.H., Kang H.K., Cho Y.H., Gwag J.G., Park Y.J. Characterization of microsatellite loci developed for *Amaranthus hypochondriacus* and their cross-amplification in wild species// *Conserv Genet.* —2008. —V. 9. —P. 243–246.

Ray T. and Roy S. C. Phylogenetic relationships between members of *Amaranthaceae* and *Chenopodiaceae* of Lower Gangetic plains using RAPD and ISSR markers// *Bangladesh J. Bot.* —2007, 36(1). —P. 21–28.

Осипова Е.С. Выявление специфических RAPD- и ISSR-фрагментов у соматклонов кукурузы (*Zea mays* L.) и создание на их основе SCAR-маркеров. /Е.С.Осипова, О.В.Ковеза, А.В.Троицкий, Ю.И.Долгих, З.Б.Шамина, С.А.Гостимский // *Генетика.* —М., —2003. —Т.39, N 12. — С.1664–1672.

Borchert T., Krueger J. and Hohe A. Implementation of a model for identifying Essentially Derived Varieties in vegetatively propagated *Calluna vulgaris* varieties// *BMC Genetics* 2008, 9:56.

Gabrielsen, T. M., K. Bachmann, K. S. Jakobsen, and C. Brochmann. Glacial survival does not matter: RAPD phylogeography of Nordic *Saxifraga oppositifolia*// 1997. *Molecular Ecology.* Vol. 6, —P. 831–842.

Ray T. and Roy S.C. Genetic Diversity of *Amaranthus* Species from the Indo-Gangetic Plains Revealed by RAPD Analysis Leading to the Development of Ecotype-Specific SCAR Marker// *J Hered.* —2009, —V. 100(3). —P. 338–347.

Mandal N. and Das P. K. Intra- and Interspecific Genetic Diversity in Grain *Amaranthus* Using Random Amplified Polymorphic DNA Markers// *Plant Tissue Cult.* —2002. —V. 12, №1. —P. 49–56.

Morgante M., Hanafey M., Powell W. Microsatellites are preferentially associated with nonrepetitive DNA in plant genomes// *Nat Genet.* —2002, —Vol. 30, —P.194–200.

## GENETIC DIFFERENTIATION OF *AMARANTHUS* SPP. CULTIVARS ON THE BASIS OF RAPD– AND ISSR-MARKERS

Vlasova N.B., Yukhimuk A.N., Spirydovich A.V.

SSI «Central botanical gardens of NAS of Belarus»

Republic of Belarus, Minsk 220012, Ul. Surganova 2B

E-mail: nastasia\_vlasova@nm.ru

**Summary.** RAPD– and ISSR-PCR analysis of 10 cultivars of *Amaranthus* spp. has been carried out on the basis of developed 91 RAPD– и 69 ISSR-markers aimed at genetic certification, identification, valuable genotypes protection, and further direction selection realization. RAPD, ISSR and RAPD+ISSR dendrograms of genetic distance/similarity of analyzed species and cultivars of *Amaranthus* spp. have been created by means of Bioanalyser-2100 and specialized software package. Unique cultivar-specific markers have been developed for the number of genotypes, which are possible to convert to SCAR-markers of genes of biosynthesis of valuable secondary metabolites of culture.